中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙对异育银鲫生长性能、体成分及磷利用率的影响

曾晓霭[1,2]　徐树德[2]　陈清华[1*]　轩岩俊[2]　赵青海[2]

（1.湖南农业大学动物科学技术学院，长沙 410128；2.广东溢多利生物科技股份有限公司，珠海 519060）

摘　要：本试验旨在研究中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙对异育银鲫生长性能、体成分、血清生化指标及磷利用率的影响。试验分为 7 组，分别为 D1 组(正对照组，饲料中添加 1.5%磷酸二氢钙)、D2 组(负对照 1 组，饲料中添加 1.0%磷酸二氢钙)、D3 组(饲料中添加 1.0%磷酸二氢钙+400 U/kg 中性植酸酶)、D4 组(饲料中添加 1.0%磷酸二氢钙+800 U/kg 中性植酸酶)、D5 组(负对照 2 组，饲料中添加 0.5%磷酸二氢钙)、D6 组(饲料中添加 0.5%磷酸二氢钙+400 U/kg 中性植酸酶)和 D7 组(饲料中添加 0.5%磷酸二氢钙+800 U/kg 中性植酸酶)，每组 3 个重复，每个重复 25 尾鱼[初始均重（23.39±0.10) g]，开展为期 8 周的生长试验。结果表明：异育银鲫摄食试验饲料 8 周后，D5 组的生长性能最差，其增重率、特定生长率、摄食量均显著低于其余各组(P<0.05)，饲料系数则显著高于其余各组(P<0.05)。D2 和 D6 组的增重率和特定生长率显著低于 D1 组(P<0.05)，而饲料系数则显著高于 D1 组(P<0.05)。D3、D4 和 D7 组的各项生长性能指标与 D1 组均没有显著差异(P>0.05)。异育银鲫的全鱼水分、粗蛋白质、粗灰分和磷含量以及血清胆固醇含量和碱性磷酸酶活性在各组间均无显著差异(P>0.05)。除 D5 组外，其余各组间血清中磷和甘油三酯含量无显著差异(P>0.05)。在相同的磷酸二氢钙添加量下，添加中性植酸酶组磷沉积率和磷表观消化率显著高于未添加中性植酸酶组(P<0.05)，而磷排放量则相反。由此可知，饲料中添加 400 和 800 U/kg 中性植酸酶可以分别减少 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙添加量而不影响异育银鲫的生长性能、体成分和血清生化指标等。在异育银鲫饲料中，中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙可以提高饲料磷利用率、降低磷排放量，从而带来经济效益和生态效益。

关键词：异育银鲫；中性植酸酶；磷酸二氢钙；生长性能；体成分；磷利用率

中图分类号:S963　　　文献标识码:A　　　文章编号:

收稿日期：2015-12-17

基金项目："十二五"农村领域国家科技计划课题——新型饲料用酶制剂创制与应用-安全高效饲料添加剂创制与应用(2013BAD10B00)；湖南农业大学技术开发合作项目——酶制剂应用效果评估技术体系的研究（13118)

作者简介：曾晓霭（1982-），女，湖南邵阳人，农业推广硕士研究生，研究方向为饲料资源的开发和利用，E-mail: 155199349@qq.com

*通信作者：陈清华，副教授，硕士生导师，E-mail:　chqh314@163.com

鱼粉属于资源性原料，捕捞量有限，致使近几年鱼粉价格一路飙高，如何有效地降低鱼粉用量是饲料企业节约成本的主要途径之一。目前应用的比较成功的方案就是最大限度的利用植物性蛋白质源替代部分鱼粉，加大植物性蛋白质原料在水产饲料中的使用比例。水产动物对磷的需求量大，为满足其对磷的需求，通常在配合饲料中添加较多的磷酸二氢钙，然而磷酸二氢钙为矿物磷源，非可再生。植物性蛋白质原料中含有大量的植酸或植酸盐（磷的主要存在形式），由于水产动物消化道中缺乏植酸酶，因此植酸磷不能被水产动物利用[1-2]。未被吸收利用的植酸磷被排出体外，容易引起水体富营养化，造成水体环境污染。植酸酶能够催化植酸磷水解为无机磷，同时可释放与植酸结合的营养物质，提高饲料的潜在营养价值[3]。因此，水产饲料中添加外源植酸酶可以减少磷酸二氢钙的使用量，不仅可以节约饲料成本，而且可以保护环境、减少污染。众多研究表明，饲料中添加植酸酶是提高水产动物对磷的利用率、降低磷污染的有效途径[4-8]。饲料中添加植酸酶来减少磷酸二氢钙的使用量将成为未来水产饲料工业的发展趋势。

异育银鲫是以 3 倍体的方正银鲫为母本，以 2 倍体的兴国红鲤为父本，通过人工诱导雌核发育而培育出的子代，具有生长速度快、个体大、抗逆性强等特点，在养殖生产中体现了良好的经济性状，且肉质鲜美，具有极高的营养价值，是我国鲫鱼养殖的主要品种，深受消费者的喜爱，近年来还出口到韩国、日本和东南亚等国家和地区[9-10]。以往植酸酶在水产饲料中应用的报道主要为酸性植酸酶，酸性植酸酶适用于胃 pH 呈酸性的鲑鳟鱼、鲈鱼、石斑鱼等有胃鱼类，但不适用于消化道为中性的淡水鲤科无胃鱼类。仇明等[11]研究了中性植酸酶对异育银鲫生长的影响及其在肠道中酶活的分布状况，但未替代磷酸二氢钙。本研究选用适合水产动物肠道环境的中性植酸酶，主要从鱼体生长性能、体组成、饲料营养成分特别是磷的利用率等方面探讨其在异育银鲫饲料中替代磷酸二氢钙的应用可行性，为中性植酸酶在水产养殖中的推广应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验饲料

本试验饲料配方是参考鲫鱼商品饲料配方设计的，共配制 7 组试验饲料，正对照组设为 D1 组，其磷酸二氢钙添加量为 1.5%、不添加中性植酸酶，其余 6 组分别设为 D2、D3、D4、D5、D6 和 D7 组，D2 组为负对照 1 组，其磷酸二氢钙添加量为 1.0%、不添加中性植酸酶，D3 组磷酸二氢钙添加量为 1.0%、添加 400 U/kg 中性植酸酶，D4 组磷酸二氢钙添加量为 1.0%、添加 800 U/kg 中性植酸酶，D5 组为负对照 2 组，其磷酸二氢钙添加量为 0.5%、不添加中性植酸酶，D6 组磷酸二氢钙添加量为 0.5%、添加 400 U/kg 中性植酸酶，D7 组磷酸

二氢钙添加量为 0.5%、添加 800 U/kg 中性植酸酶。所有饲料原料先经粉碎，再过 60 目筛，随后按配方表（表 1）准确称料，在饲料搅拌机中混匀 30 min，然后边搅拌边慢慢加入豆油和占饲料干重 40%的水分，最后用硬颗粒挤压机(上海渔机所生产)制成直径为 1.5 mm 的硬颗粒饲料，将其风干至水分含量 8%～10%，用塑料袋密封置于-20 ℃冰箱中保存备用。中性植酸酶由广东溢多利生物科技股份有限公司通过自然筛选诱变耐高温菌种经液体发酵后喷粉干燥得来，商品名为威特磷（pH 6.5、25 ℃下活性为 2 000 U/g），经饲料挤压制粒后活性基本没有变化。

表 1　试验饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis)　　%

项目 Items	组别 Groups						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
原料 Ingredients							
菜籽粕 Rapeseed meal	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00	25.00
豆粕 Soybean meal	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00	18.00
面粉 Wheat meal	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00	16.00
棉籽粕 Cottonseed meal	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00	15.00
米糠粕 Rice bran meal	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00	12.00
鱼粉 Fish meal	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00	9.00
豆油 Soybean oil	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
预混料 Premix	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
膨润土 Bentonite	1.30	1.80	1.78	1.76	2.30	2.28	2.26
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	1.50	1.00	1.00	1.00	0.50	0.50	0.50
中性植酸酶 Neutral phytase			0.02	0.04		0.02	0.04
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels							
粗蛋白质 CP	31.32	31.13	31.26	31.18	31.37	31.01	31.21
粗脂肪 EE	3.98	4.02	3.94	4.05	3.97	4.09	4.11
粗灰分 Ash	9.11	9.14	9.03	9.17	9.01	9.21	9.18
水分 Moisture	8.71	8.55	8.63	8.67	8.51	8.49	8.57
总磷 TP	1.19	1.08	1.09	1.08	0.98	0.98	0.99
植酸磷 Phytate-P	0.43	0.43	0.42	0.41	0.43	0.42	0.41

[1)]预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of diets:Cu (as copper sulfate) 12.50 mg，Fe (as ferrous sulfate) 105 mg，Mn (as manganese sulfate) 10 mg，Zn (as zinc sulfate) 20 mg，I (as potassium iodide) 1 mg，Se (as sodium selenite) 0.10 mg，Mg (as magnesium sulfate)10 mg，Co (as cobalt sulfate) 1.5 mg，KCl 95 mg，NaCl 165 mg，VA 2 000 IU，VB_1 5 mg，VB_2 5 mg，VB_6 5 mg，VB_{12} 0.025 mg，VD_3 1 200 IU，VE 21 mg，VK_3 2.5 mg，叶酸 folic acid 1.3 mg，生物素 biotin 0.05 mg，泛酸钙 calcium pantothenate 20 mg，肌醇

inositol 60 mg，烟酸 nicotinic acid 25 mg，VC 35 mg。

1.2 试验鱼和饲养试验

试验用异育银鲫购自湖南某种苗场，在进行正式试验之前，先在室内水族箱驯化 2 周以适应试验条件。试验开始前，让鱼禁食 24 h，然后将健康、体重基本一致的鱼集中，用 74 mg/L 的 MS-222 麻醉后逐条称重，按每个水族缸(规格为 200 L)25 尾试验鱼[(23.39±0.10) g]的密度开展养殖试验。每组设 3 个重复（水族缸），投喂对应试验饲料。试验期间采用微流水养殖，水温为(23±2) ℃，pH 7.5 左右；适量连续充气，使水体溶氧浓度≥5 mg/L；每天清晨用虹吸法去除水族缸底部的粪便，氨氮浓度<0.01 mg/L。每天投喂 2 次(08:30、16:30)，饱食投喂，记录投饲量。养殖时间为 2015 年 5 月 15 日至 2015 年 7 月 8 日，共 8 周。

1.3 样品的收集及测定

试验结束时，试验鱼禁食 24 h 后用 MS-222 麻醉后逐尾称重。每缸随机取 3 尾鱼(每组共 9 尾)，称重、蒸煮、烘干、磨碎后，将全鱼的粉状样品保存于−20 ℃中用于生化成分分析。每缸再随机取 3 尾鱼，用 1 mL 一次性医用注射器于尾静脉快速抽血，每尾鱼取 0.5 mL，血样冰上静置 4 h 以上，在 4 ℃、4 000 r/min 下离心 10 min，收集血清保存于－20 ℃下用于生化指标测定。饲料和全鱼样品的水分、粗蛋白质、粗脂肪、粗灰分和总磷含量分别按照 GB 6435-1986、GB 6432-1994、GB 6433-1994、GB/T 6438-1992 和 GB/T 6437-2002 所述方法测定。植酸磷含量使用 Carlsson 等[12]描述的方法进行测定。血清磷、甘油三酯、胆固醇含量和碱性磷酸酶活性使用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

在养殖的最后 1 周在试验饲料中加入 1%的三氧化二铬（Cr_2O_3）进行投喂，收集投喂饲料后试验鱼的粪便用于磷表观消化率的测定。饲料和粪便中 Cr_2O_3 含量通过原子吸收分光光度法[13]测定。

1.4 计算方法

增重率(%)=100×[末均重（g）–初均重（g）]/初均重（g）；

特定生长率(%/d)=100×[ln 末均重（g）–ln 初均重（g）]/养殖天数（d）；

摄食量(g/尾)=饲料消耗量（g）/鱼尾数；

饲料系数=饲料消耗量(干重，g)/鱼体增重(湿重，g)；

蛋白质效率(%)=100×鱼体增重(g)/蛋白质摄入量(g)；

存活率(%)=100×最终鱼尾数/初始鱼尾数；

肝体比(%)=100×肝脏重(g)/体重(g)；

脏体比(%)=100×内脏重(g)/体重(g)；

磷摄入量(g)=摄食量(g)×饲料总磷含量(%)；

磷沉积量(g)=最终鱼体磷含量(g)–初始鱼体磷含量(g)

磷沉积率(%)=100×磷沉积量(g)/磷摄入量(g)

磷排放量(g/kg 鱼体增重)=[磷摄入量(g)–磷沉积量(g)]/鱼体增重(kg)

磷表观消化率(%)＝100×{1–[粪便中的总磷含量（%）/饲料中的总磷含量（%）]×[饲料中 Cr_2O_3 含量(%)/粪便中 Cr_2O_3 含量(%)]}；

有效磷含量(%)=磷表观消化率(%)×饲料总磷含量(%)。

1.5 统计分析

原始数据首先使用 Microsoft Excel 2000 进行处理，再通过 Origin 9.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Tukey 多重比较法分析，P<0.05 表示有显著差异。结果均以平均值±标准误(mean±SE,n=3)表示。

2 结果与分析

2.1 生长性能

由表 2 可知，异育银鲫摄食不同试验饲料 8 周后，D5 组的生长性能最差，其增重率、特定生长率、摄食量均显著低于其余各组(P<0.05)，饲料系数则显著高于其余各组(P<0.05)，蛋白质效率和脏体比分别显著低于和高于 D1、D3、D4(P<0.05)，同时该组存活率最低。D2 和 D6 组的增重率和特定生长率显著低于 D1 组(P<0.05)，而饲料系数则显著高于 D1 组(P<0.05)。D3、D4 和 D7 的各项生长性能指标与 D1 组均没有显著差异(P>0.05)。另外，各组之间肝体比无显著差异(P>0.05)。结果说明，减少饲料中磷酸二氢钙的添加量会影响鱼体的生长性能；当饲料中分别添加 400 和 800 U/kg 中性植酸酶时，可以分别减少 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙添加量而不影响鱼体的生长性能。

表 2　异育银鲫摄食试验饲料 8 周后的生长性能

Table 2　Growth performance of *Carassius auratus gibelio* fed the experimental diets for 8 weeks

项目 Items	组别 Groups						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
初均重 Initial body weight/g	23.41±0.09	23.38±0.16	23.39±0.12	23.38±0.13	23.37±0.15	23.40±0.25	23.39±0.20
末均重 Final body weight/g	45.37±0.77^{d}	42.10±0.47^{bc}	44.59±0.41^{cd}	46.16±0.54^{d}	36.05±0.51^{a}	41.74±0.69^{b}	44.55±0.34^{cd}
增重率 Weightgainrate/%	93.77±2.60^{cd}	80.05±1.01^{b}	90.61±0.79^{c}	97.59±1.12^{d}	54.30±1.43^{a}	78.37±1.07^{b}	90.52±1.03^{c}
特定生长率 Special growth rate/(%/d)	1.18±0.02^{c}	1.05±0.01^{b}	1.15±0.01^{c}	1.22±0.01^{c}	0.77±0.02^{a}	1.03±0.01^{b}	1.15±0.01^{c}
摄食量 Feed intake/(g/尾)	33.93±0.81^{b}	33.66±0.59^{b}	33.33±0.84^{b}	34.46±1.51^{b}	25.71±0.52^{a}	32.99±1.01^{b}	33.43±0.68^{b}
饲料系数 Feed conversion ratio	1.55±0.04^{a}	1.80±0.05^{b}	1.57±0.04^{a}	1.51±0.04^{a}	2.03±0.06^{c}	1.80±0.05^{b}	1.58±0.04^{a}
蛋白质效率 Protein efficiency ratio/%	186.00±4.37^{bc}	160.99±5.46^{ab}	183.24±4.76^{b}	191.43±5.13^{c}	141.58±4.16^{a}	161.64±5.69^{ab}	182.72±4.42^{bc}
存活率 Survival rate/%	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	86.12±2.94	100.00±0.00	100
肝体比 Hepato-somatic index/%	3.13±0.11	3.16±0.14	3.12±0.13	3.09±0.08	3.19±0.15	3.15±0.11	3.12±0.09
脏体比 Viscero-somatic index/%	11.95±0.30^{a}	12.89±0.47^{ab}	12.05±0.30^{a}	11.97±0.31^{a}	14.75±0.59^{b}	12.92±0.49^{ab}	12.09±0.33^{a}

同行数据肩标不同字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。

Values in the same row with different letter superscripts were significantly different (P<0.05). The same as bellow.

2.2 体成分

由表 3 可知，摄食试验饲料 8 周后的异育银鲫全鱼中水分、粗蛋白质、粗灰分和磷含量在不同组间均无显著差异(P>0.05)；然而，D5 组粗脂肪含量显著高于 D1、D3、D4 和 D7 组(P<0.05)，与 D2 和 D6 组无显著差异(P>0.05)。结果表明，饲料中磷缺乏会引起鱼体脂肪堆积；用 400 和 800 U/kg 中性植酸酶分别替代 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙不会影响异育银鲫的体成分。

表 3　异育银鲫摄食试验饲料 8 周后的体成分

Table 3　Body composition of *Carassius auratus gibelio* fed the experimental diets for 8 weeks　%

项目 Items	组别 Groups						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
水分 Moisture	77.41±0.49	77.18±0.66	77.39±0.62	76.98±0.53	77.27±0.45	76.90±0.55	77.49±0.60
粗蛋白质 CP	18.37±0.27	18.20±0.31	18.59±0.33	18.86±0.44	18.15±0.21	18.74±0.29	18.55±0.34
粗脂肪 EE	4.45±0.14[a]	4.80±0.09[ab]	4.47±0.14[a]	4.42±0.11[a]	5.32±0.12[b]	4.81±0.09[ab]	4.46±0.11[a]
粗灰分 Ash	5.48±0.12	5.35±0.16	5.45±0.13	5.52±0.14	5.17±0.12	5.43±0.11	5.51±0.17
磷 Phosphorus	1.01±0.04	0.97±0.04	0.99±0.03	1.02±0.05	0.95±0.03	1.00±0.04	1.01±0.04

2.3 血清生化指标

异育银鲫摄食不同试验饲料 8 周后的血清生化指标见表 4。血清胆固醇含量和碱性磷酸酶活性在各组间均无显著差异(P>0.05)。血清磷和甘油三酯含量，除 D5 组外，其余各组间无显著差异(P>0.05)；D5 组血清磷含量显著低于 D1、D3、D4 和 D7 组(P<0.05)，但与 D2 和 D6 组无显著差异(P>0.05)；D5 组血清甘油三酯含量显著高于其余各组(P<0.05)。结果说明，随着饲料中磷酸二氢钙添加量的减少，异育银鲫血清磷含量降低、甘油三酯含量升高；用 400 和 800 U/kg 中性植酸酶分别替代 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙不会影响异育银鲫血清磷和甘油三酯含量等生化指标。

表 4　异育银鲫摄食试验饲料 8 周后的血清生化指标

Table 4　Serum biochemical parameters of *Carassius auratus gibelio* fed the experimental diets for 8 weeks

项目 Items	组别 Groups						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7

磷 Phosphorus/(mmol/L)	3.30±0.11^{b}	2.94±0.09^{ab}	3.28±0.12^{b}	3.45±0.13^{b}	2.65±0.08^{a}	2.91±0.07^{ab}	3.24±0.11^{b}
胆固醇 Cholesterol /(mmol/L)	4.37±0.17	4.40±0.12	4.39±0.11	4.26±0.14	4.55±0.11	4.44±0.09	4.35±0.14
甘油三酯 Triglyceride /(mmol/L)	2.83±0.09^{a}	2.98±0.12^{a}	2.88±0.10^{a}	2.84±0.09^{a}	3.59±0.16^{b}	2.99±0.09^{a}	2.89±0.13^{a}
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase/(U/L)	36.31±0.63	36.37±0.83	35.48±0.54	35.61±0.58	37.04±0.54	36.61±0.54	36.18±0.49

2.4 试验饲料中磷的利用率

异育银鲫对试验饲料的磷利用情况如表 5 所示。磷沉积率，D2、D5 和 D1 组之间无显著差异(P>0.05)，D3、D6 与 D1 组之间亦无显著差异(P>0.05)，D2 和 D5 组显著低于 D3、D4、D6 和 D7 组(P<0.05)，D4 和 D7 组显著高于 D1 组(P<0.05)。磷排放量，D2 和 D5 组显著高于其余各组(P<0.05)，D4 和 D7 组显著低于其余各组(P<0.05)。磷表观消化率，D5 组最低、D2 组次之，均显著低于其他组(P<0.05)，D4 和 D7 组显著高于其余各组(P<0.05)，D3、D6 和 D1 组之间无显著差异(P>0.05)。结果表明，400 和 800 U/kg 中性植酸酶分别与 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙产生的有效磷含量相当；用中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙可提高饲料磷利用率、降低磷排放量。

表 5 异育银鲫对试验饲料中磷的利用率

Table 5 Phosphorus utilization of experimental diets for *Carassius auratus gibelio*

项目 Items	组别 Groups						
	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7
磷摄入量 Phosphorus intake/g	0.40±0.01^{d}	0.36±0.01^{bc}	0.36±0.01^{bc}	0.37±0.02^{cd}	0.25±0.01^{a}	0.32±0.01^{b}	0.33±0.01^{bc}
磷沉积量 Phosphorus retention/g	0.22±0.01^{c}	0.18±0.01^{b}	0.21±0.01^{c}	0.23±0.01^{c}	0.12±0.01^{a}	0.18±0.01^{b}	0.21±0.01^{c}
磷沉积率 Phosphorus retention rate/%	54.94±1.29^{ab}	50.48±1.26^{a}	57.81±1.37^{bc}	62.64±1.52^{cd}	47.84±1.40^{a}	57.42±1.13^{bc}	64.64±1.46^{d}
磷排放量 Phosphorus discharge/(g/kg 鱼体增重)	8.31±0.20^{b}	9.56±0.25^{c}	7.25±0.21^{b}	6.11±0.26^{a}	10.39±0.25^{c}	7.46±0.24^{b}	5.54±0.20^{a}

磷表观消化率 Apparent digestibility of phosphorus/%	61.01±0.57[c]	57.95±0.48[b]	69.04±0.58[c]	79.07±0.68[d]	53.67±0.57[a]	68.84±0.58[c]	78.48±0.58 [d]

3 讨　论

3.1 中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙对异育银鲫生长性能的影响

磷是骨骼系统、能量以及细胞代谢中的重要物质，是鱼类生长的基本矿物营养[1]。由于水产动物对磷的需求量大，对植物性原料中磷的利用率又较低，因此，在水产饲料中通常添加较多磷酸二氢钙来满足水产动物对磷的需求[14]。植酸酶能够催化植酸磷水解为无机磷，从而提高植酸磷的消化利用率，增加饲料中有效磷含量，因此可通过添加植酸酶来减少饲料中磷酸二氢钙的添加量[15]。余丰年等[16]研究表明，用植酸酶预处理豆粕后，500 和 1 000 U/kg 的植酸酶替代 1.6%磷酸二氢钙对异育银鲫的生长性能和饲料利用率无显著影响（对照组磷酸二氢钙添加量为 2.5%）。本试验中，当饲料中减少 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙添加量时，异育银鲫的增重率和特定生长率显著降低，说明磷酸二氢钙添加量的减少使饲料中有效磷含量不足，影响了鱼体的正常生长。同时，减少 1.0%的磷酸二氢钙添加量时异育银鲫的脏体比显著升高，这是由于磷酸二氢钙添加量的减少使饲料中有效磷含量降低，造成内脏脂肪富集，这是鲤科鱼类磷缺乏症状之一[17]。而在减少 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙的同时分别添加 400 和 800 U/kg 中性植酸酶则没有对影响异育银鲫的增重率、特定生长率、蛋白质效率和饲料系数产生显著影响，说明添加的植酸酶催化植酸磷释放出可被鱼体直接利用的有效磷，而这部分有效磷弥补了减少添加的磷酸二氢钙提供的有效磷。然而，400 U/kg 中性植酸酶替代 1.0%的磷酸二氢钙时，鱼体的增重率和特定生长率显著低于正对照组，说明 400 U/kg 中性植酸酶水解产生的有效磷不足以弥补 1.0%磷酸二氢钙所含的有效磷。这与通过磷表观消化率计算得出的各组饲料有效磷含量相符。因此，400 和 800 U/kg 中性植酸酶可以分别替代 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙。至于加大植酸酶添加量能否完全替代异育银鲫饲料中的磷酸二氢钙则有待进一步的研究。

3.2 中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙对异育银鲫体成分的影响

本研究中，全鱼中水分、粗蛋白质、粗灰分以及磷含量在各组间均无显著差异。有研究报道，饲料中磷含量和是否添加植酸酶不影响鱼体中水分、粗蛋白质、粗灰分以及磷含量[18-19]，本研究结论与上述报道相一致。但当饲料中有效磷含量较低时，大西洋鲑(*Salmo salar*)幼鱼全鱼中粗灰分和磷的含量显著降低[20]，石斑鱼(*Epinephelus coioides*)幼鱼全鱼中粗灰分含量也显著降低[21]。上述研究结果的不同可能与物种、大小、养殖环境以及养殖周期的不

同有关。此外，当减少饲料中磷酸二氢钙的添加量时，鱼体粗脂肪含量升高，这是由于饲料中磷缺乏时抑制了脂肪酸的 β-氧化而使鱼体脂肪堆积[22]。而在减少 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙的同时分别添加 400 和 800 U/kg 中性植酸酶后没有对鱼体粗脂肪含量产生显著影响，这也说明了植酸酶催化植酸水解产生的有效磷能够弥补减少添加的磷酸二氢钙提供的有效磷，400 和 800 U/kg 中性植酸酶可以分别替代 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙。

3.3 中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙对异育银鲫血清生化指标的影响

当水产动物饲料中磷缺乏或者不足时，往往会导致厌食、生长受阻、饲料利用率下降，增加内脏体脂肪沉积等；也可能会导致血液中的磷、甘油三酯、胆固醇和碱性磷酸酶等生化指标的含量或活性发生变化[23]。有研究报道，饲料中不添加磷组鱼体血清磷含量显著低于添加磷组[24-25]。本研究中，异育银鲫血清磷含量随着饲料中磷酸二氢钙添加量的减少而降低，减少 1.0%磷酸二氢钙添加量组显著低于正对照组。然而，在减少磷酸二氢钙的同时添加中性植酸酶，则血清磷含量没有受到显著影响，说明饲料中磷含量不足时血清磷含量会随着降低。此外，本研究中异育银鲫血清碱性磷酸酶活性在各组间无显著差异，这与 Sugiura 等[26]报道的虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)血浆中碱性磷酸酶活性与饲料含磷量多少无关的研究结果基本一致，而与郑涛等[23]报道的不添加磷组罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O.aureus*)血清碱性磷酸酶活性显著高于添加磷组不一致。

3.4 中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙对异育银鲫磷利用率的影响

研究表明，在高比例植物性原料的鱼类饲料中添加植酸酶可以提高磷的利用率[18,27]。本研究也表明，在异育银鲫饲料中添加一定量的植酸酶提高了磷的表观消化率。在无鱼粉或鱼粉添加量少的鱼类饲料中，植酸磷占了很大比例。由于消化道中缺乏植酸酶，鱼类不能利用植酸磷，然而外源植酸酶可催化植酸水解释放出无机磷，从而提高植酸磷的利用率[15]。因此，在异育银鲫饲料中添加中性植酸酶可以提高磷的沉积率和表观消化率，降低磷的排放量。本研究中，400 和 800 U/kg 中性植酸酶分别替代 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙后磷贮积率分别提高了 3%和 10%，磷表观消化率分别提高了 8%和 17%，中性植酸酶添加量越高磷表观消化率越高。徐树德等[28]用 400 U/kg 中性植酸酶替代 1.0%的磷酸二氢钙后发现黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)饲料中磷的表观消化率提高了 7%。杨雨虹等[29]的研究表明，饲料中添加 1 500 和 3 000 U/kg 植酸酶时鲤鱼(*Cyprinus carpio*)对饲料中磷的表观消化率分别提高了 9%和 11%，与本试验结果存在较大差异的原因可能与试验饲料配方结构以及鱼的种类有关。余丰年等[15]用植酸酶体外预处理豆粕替代 1.6%磷酸二氢钙可使异育银鲫磷沉积率提高 6%。由于磷是水体中的主要污染源，水产养殖中的磷排放已引起人们的广泛关注。因此，

降低水产养殖中的磷排放是减少水环境污染的重要因素。植酸酶替代磷酸二氢钙不仅可以减少饲料总磷含量，而且可以提高磷的利用率，从而使排放到水体中磷大大减少。本研究中，400 和 800 U/kg 中性植酸酶分别替代 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙后磷排放量分别降低了 13%和 33%，与他人得出的植酸酶替代磷酸二氢钙可以减少磷排放的结果[30-32]一致。

4 结　论

① 饲料中添加 400 和 800 U/kg 中性植酸酶可以分别减少 0.5%和 1.0%的磷酸二氢钙添加量而不影响异育银鲫的生长性能、体成分和血清生化指标等。

② 在异育银鲫饲料中，中性植酸酶部分替代磷酸二氢钙不影响鱼体的生长，且可以提高饲料磷利用率、降低磷排放量，从而带来经济效益和生态效益。

参考文献：

[1] NRC.Nutrient requirements of fish[S].Washington,D.C.:National Academy Press,1993.

[2] JACKSON L S,LI M H,ROBINSON E H.Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus[J].Journal of the World Aquaculture Society,1996,27(3):309–313.

[3] KUMAR V,SINHA A K,MAKKAR H P S,et al.Phytate and phytase in fish nutrition[J].Animal Physiology and Animal Nutrition,2012,96(3):335–364.

[4] LIEBERT F,PORTZ L.Nutrient utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* fed plant based low phosphorus diets supplemented with graded levels of different sources of microbial phytase[J].Aquaculture,2005,248(1/2/3/4):111–119.

[5] LI M H,ROBINSON E H.Microbial phytase can replace inorganic phosphorus supplements in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets[J].Journal of the World Aquaculture Society,1997,28(4):402–406.

[6] ROBINSONE H,LI M H,MANNING B B.Comparison of microbial phytase and dicalcium phosphate for growth and bone mineralization of pond-raised channel catfish,*Ictalurus punctatus*[J].Journal of Applied Aquaculture,2002,12(3):81–88.

[7] PORTZ L,LIEBERT F.Growth,nutrient utilization and parameters of mineral metabolism in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linneaus,1758) fed plant-based diets with graded levels of microbial phytase[J].Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition,2004,88(9/10):311–320.

[8] PHROMKUNTHONG W,GABAUDAN J.Used of microbial phytase to replace inorganic phosphorus in sex-reversed red tilapia:1 dose response[J].Songklanakarin Journal of Science and Technology,2006,28(4):731–743.

[9] XUE M,CUI Y B.Effect of several feeding stimulants on diet preference by juvenile gibel carp (*Carassius auratus gibelio*),fed diets with or without partial replacement of fish meal by meat and bone meal[J].Aquaculture,2001,198(3/4):281–292.

[10] ZOU Z,CUI Y,GUI J,et al.Growth and feed utilization in two strains of gibel carp,*Carassius*

auratus gibelio:paternal effects in a gynogenetic fish[J].Journal of Applied Ichthyology,2001,17(2):54–58.
[11] 仇明,王爱民,吕林兰,等.中性植酸酶对异育银鲫鱼种生长的影响及其在肠道中酶活分布状况[J].粮食与饲料工业,2010(2):38–41.
[12] CARLSSON N G,BERGMAN E L,SKOGLUND E,et al.Rapid analysis of inositol phosphates[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2001,49(4):1695–1701.
[13] AOAC.Official methods of analysis of AOAC international[S].16th ed.Arlington,VA:AOAC,1995.
[14] LAINING A,ISHIKAWA M,KOSHIO S,et al.Dietary inorganic phosphorus or microbial phytase supplementation improves growth,nutrient utilization and phosphorus mineralization of juvenile red sea bream,*Pagrus major*,fed soybean-based diets[J].Aquaculture Nutrition,2012,18(5):502–511.
[15] CAO L,WANG W M,YANG C T,et al.Application of microbial phytase in fish feed[J].Enzyme and Microbial Technology,2007,40(4):497–507.
[16] 余丰年,王道尊.植酸酶对异育银鲫生长及饲料中磷利用率的影响[J].中国水产科学,2000,7(2):106–109.
[17] HALVER J E,HARDY R W.Fish nutrition[M].3rd ed.Amsterdam:Academic Press,2002.
[18] YOO G Y,WANG X J,CHOI S,et al.Dietary microbial phytase increased the phosphorus digestibility in juvenile Korean rockfish *Sebastes schlegeli* fed diets containing soybean meal[J].Aquaculture,2005,243(1/2/3/4):315–332.
[19] LIU L W,SU J M,LUO Y L.Effect of partial replacement of dietary monocalcium phosphate with neutral phytase on growth performance and phosphorus digestibility in gibel carp,*Carassius auratus gibelio* (Bloch)[J].Aquaculture Research,2012,43(9):1404–1413.
[20] BAEVERFJORD G,ASGARD T,SHEARER K D.Development and detection of phosphorus deficiency in Atlantic salmon,*Salmo salar* L.,parr and post-smolts[J].Aquaculture Nutrition,1998,4(1):1–11.
[21] YE C X,LIU Y J,TIAN L X,et al.Effect of dietary calcium and phosphorus on growth,feed efficiency,mineral content and body composition of juvenile grouper,*Epinephelus coioides*[J].Aquaculture,2006,255(1/2/3/4):263–271.
[22] SKONBERG D I,YOGEV L,HARDY R W,et al.Metabolic response to dietary phosphorus intake in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture,1997,157(1/2):11–24.
[23] 王秀云,何振平,刘艳芳.植酸酶在水产养殖中的应用(综述)[J].河北科技师范学院学报,2008,22(2):71–75.
[24] 郑涛,潘庆,李桂峰,等.无鱼粉饲料中添加磷和植酸酶对奥尼罗非鱼生长性能及体成分的影响[J].中国水产科学,2006,13(1):112–118.
[25] 李萌,王桂芹.植酸酶对黄金鲫钙磷代谢的影响[J].中国饲料,2015(8):34–38.
[26] SUGIURA S H,RABOY V,YOUNG K A,et al.Availability of phosphorus and trace

elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture,1999,170(3/4):285–296.

[27] SAJJADI M,CARTER C G.Effect of phytic acid and phytase on feed intake,growth,digestibility and trypsin activity in Atlantic salmon (*Salmo salar*,L.)[J].Aquaculture Nutrition,2004,10(2):135–142.

[28] 徐树德,王树启,游翠红,等.中性植酸酶替代磷酸二氢钙对黑鲷生长和磷利用的影响[J].中国水产科学,2014,21(3):522–530.

[29] 杨雨虹,郭庆,祖立闯,等.植酸酶对鲤鱼生长及磷利用率的影响[J].淡水渔业,2006,36(5):20–23.

[30] LANARI D,D'AGARO E,TURRI C.Use of nonlinear regression to evaluate the effects of phytase enzyme treatment of plant protein diets for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture,1998,161(1/2/3/4):345–356.

[31] FORSTER I,HIGGS D A,DOSANJH B S,et al.Potential for dietary phytase to improve the nutritive value of canola protein concentrate and decrease phosphorus output in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) held in 11 ℃ fresh water[J].Aquaculture,1999,179(1/2/3/4):109–125.

[32] VIELMA J,RUOHONEN K,PEISKER M.Dephytinization of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout,*Oncorhynchus mykiss*[J].Aquaculture,2002,204(1/2):145–156.

Effects of Partial Replacing Monocalcium Phosphate with Neutral Phytase on Growth Performance, Body Composition and Phosphorus Utilization of *Carassius auratus gibelio*

ZENG Xiaoai[1,2] XU Shude[2] CHEN Qinghua[1*i] XUAN Yanjun[2] ZHAO Qinghai[2]

（1. *College of Animal Science and Technology*, *Hunan Agricultural University*, *Changsha* 410128, *China*; 2. *Guangdong VTR Co*., *Ltd*., *Zhuhai* 519060, *China*）

Abstract: An 8-week feeding trial was conducted to study the effects of partial replacing monocalcium phosphate (MCP) with neutral phytase on growth performance, body composition, serum biochemistry parameters and phosphorus utilization of *Carassius auratus gibelio*. Seven groups were designed in this experiment, there were D1 (the positive control group, 1.5% MCP), D2 (the negative control group 1, 1.0% MCP), D3 (1.0% MCP+400 U/kg neutral phytase), D4 (1.0% MCP+800 U/kg neutral phytase), D5 (the negative control group 2, 0.5% MCP), D6 (0.5% MCP+400 U/kg neutral phytase) and D7 groups (0.5% MCP+800 U/kg neutral phytase).Each group had 3 replicates and each replicate had 25 fish with the initial average body weight of （23.39±0.10) g. The results showed as follows: after the 8-week feeding trial, the D5 group showed the worst growth performance, and the weight gain rate, specific growth rate and feed intake in D5 group were significantly lower than

those in the other groups ($P<0.05$), while the feed conversion ratio was significantly higher than those in the other groups ($P<0.05$). The weight gain rate and specific growth rate in D2 and D6 groups were significantly lower than those in D1 group ($P<0.05$), while the feed conversion ratio was significantly higher than those in the other groups ($P<0.05$). All growth performance indices in D3, D4 and D7 groups had no significant differences compared with D1 group ($P>0.05$). The moisture, crude protein, ash and phosphorus contents of whole body, and serum cholesterol content and alkaline phosphatase activity had no significant differences among the all groups ($P>0.05$). Serum phosphorus and triglyceride contents, in addition to the D5 group, showed no significant difference between the rest groups ($P>0.05$). At the same supplemental level of MCP, the phosphorus retention ratio and apparent digestibility in neutral phytase supplementation groups were significantly higher than those in no neutral phytase supplementation groups ($P<0.05$), while the phosphorus discharge was opposite ($P<0.05$). The present study suggests that when the diet is supplemented 400 and 800 U/kg of phytase, the MCP level can be reduced by 0.5% and 1.0%, respectively, without affecting the growth performance, body composition and serum biochemistry parameters of *Carassius auratus gibelio*. Neutral phytase partial replacing MCP in *Carassius auratus gibelio* diet can improve the utilization of phosphorus and reduce the phosphorus discharge, thus brings economical and ecological benefits.

Key words: *Carassius auratus gibelio*; neutral phytase; monocalcium phosphate; growth performance; body composition; phosphorus utilization

---

*Corresponding author, associate professor, E-mail: chqh314 @163.com (责任编辑　菅景颖)